COORDINAMENTO TECNICO PER LA PREVENZIONE DEGLI
ASSESSORATI ALLA SANITA' DELLE REGIONI E PROVINCE
AUTONOME DI TRENTO E BOLZANO

Decreto Legislativo n. 626/94

D O C U M E N T O N. 16

LINEE GUIDA SU TITOLO VIII

Protezione da agenti biologici

Versione definitiva approvata il 16/07/1996
dalle Regioni e Province autonome
di Trento e Bolzano e dagli Istituti centrali.
Aggiornata al 15 Aprile 1998

Regione referente: Lombardia

1. ASPETTI INTERPRETATIVI DEL TITOLO VIII

Definizioni

Il campo di applicazione del titolo VIII comprende tutte le attività che possono comportare rischio di esposizione ad agenti biologici, sia quelle con uso deliberato di microrganismi che quelle con rischio potenziale di esposizione.

La differente tipologia di rischio espositivo condiziona gli adempimenti, delineati nei diversi articoli, che il datore di lavoro deve adottare.

Poiché la distinzione tra le due diverse tipologie di rischio espositivo non è sempre chiara nell'articolo della legge, dove, tra l'altro, compaiono in alcuni articoli la dizione "uso" o "utilizzazione" in altri quella di "deliberata intenzione di operare con ...", appare opportuno proporre una definizione dei termini "uso/utilizzazione" al fine di favorire un'omogeneità delle informazioni da fornire all'utenza e nei comportamenti operativi dei Servizi.

Si determina **uso** o impiego di agenti biologici allorché microrganismi considerati agenti biologici ai sensi dell'art. 74 vengano deliberatamente introdotti nel ciclo lavorativo, per esservi trattati, manipolati o trasformati ovvero per sfruttarne le proprietà biologiche a qualsiasi titolo.

Tali condizioni si verificano, quindi, ogni volta che i microrganismi si configurino comunque quali materia prima, substrato, catalizzatore, reagente o prodotto in un processo lavorativo, ancorché parziale.

Con queste premesse si comprende come i laboratori diagnostici di tipo microbiologico siano compresi nella fattispecie delle attività lavorative che *usano* agenti biologici.

In detti casi, infatti, i microrganismi vengono volutamente isolati, coltivati o trattati per accertarne la presenza, il tipo e/o la quantità nei campioni in esame, divenendo conseguentemente materie prime, almeno intermedie, delle varie fasi operative in cui si articola il processo analitico.

Nel caso di laboratori che non eseguano specificamente le prove di cui sopra, come pure nelle strutture sanitarie ambulatoriali o ospedaliere, ancorché possa determinarsi la **presenza**, occasionale o concentrata, di agenti biologici anche di gruppo 4, non si concreta un vero e proprio *uso* di tali agenti, mancando il deliberato intento di farne oggetto dell'attività lavorativa.

La presenza di agenti biologici ha qui, piuttosto, carattere di epifenomeno indesiderato ma inevitabile, più che di voluto e specifico oggetto del lavoro.

Questo concetto è esplicitato nell'art. 78, comma 4, che diversifica di conseguenza le prescrizioni a carico del datore di lavoro.

Poiché l'allegato IX, richiamato dal citato comma, non ha il carattere di elenco esaustivo dei casi in cui esso può trovare applicazione, si raccomanda di utilizzare il criterio sopra esposto per valutare ogni altra attività lavorativa non contemplata.

Nel paragrafo 4 sono riportati esempi di attività lavorative comportanti le due diverse tipologie di rischio espositivo.

Nell'elenco delle attività con rischio potenziale di esposizione non abbiamo ritenuto di dover includere i servizi svolti in comunità (es. caserme, asili nido, ecc.) in quanto il possibile contagio dei lavoratori non costituisce un rischio presente sistematicamente bensì è legato alla presenza occasionale nella comunità di soggetti portatori di agenti patogeni. In questi casi la prevenzione della trasmissione delle malattie infettive è legata all'applicazione delle misure generali di igiene e profilassi specifica. Non si ritiene, invece, necessario il ricorso a particolari norme di tutela secondo quanto previsto dal titolo VIII.

Infine non si esclude che nello svolgimento di altre attività si possano determinare, in modo estemporaneo, situazioni di esposizione anche significativa a particolari agenti biologici (es. operazioni di sgombero di cantine e solai, interventi in emergenza). Questa possibilità deve essere sempre considerata nella determinazione delle misure preventive da adottare per la limitazione del rischio.

Artt. 76 (comunicazione) - 77 (autorizzazione)

La comunicazione preventiva di inizio di attività, per gli agenti biologici dei gruppi 2 e 3 e per i laboratori diagnostici anche per il gruppo 4, e l'autorizzazione per il gruppo 4 è dovuta nel caso di nuove attività comportanti uso di microrganismi.

Tali atti non appaiono, quindi, dovuti per tutte quelle attività che comportano un rischio potenziale di esposizione.

Art. 78 (valutazione del rischio)

L'iscrizione di un'attività lavorativa ai casi di cui all'art. 78, comma 4, non contempla affatto un implicito esonero da una puntuale ricognizione e valutazione dei possibili rischi e delle relative localizzazioni e manifestazioni in seno al processo lavorativo. La valutazione del rischio, da registrare nell'apposito documento di cui all'art. 4, comma 2, è anzi da intendersi come condizione imprescindibile per l'esonero dall'applicazione di alcune misure specifiche di prevenzione, previste dagli artt. 80, 81, commi 1 e 2, 82, comma 3, 86, come espressamente ricordato in chiusura dello stesso art. 78, comma 4.

Si sottolinea che anche nei casi di parziale esonero nell'applicazione del titolo VIII devono comunque essere rispettate le norme di cui agli artt. 79 (misure tecniche, organizzative, procedurali), 81, comma 3, (misure specifiche per i servizi di isolamento ..., cioè per i reparti di malattie infettive), 85 (informazione e formazione).

Art. 87 (registri degli esposti e degli eventi)

L'istituzione di un registro dei lavoratori soggetti al rischio di esposizione ad agenti biologici e dei possibili casi di esposizione individuale è dovuta nel caso di attività comportanti uso di microrganismi dei gruppi 3 e 4. Sembrano pertanto escluse da tale obbligo le imprese esercenti attività che comportano un rischio potenziale di esposizione e, quindi, tra le altre, alla luce di quanto definito precedentemente, le attività sanitarie, i laboratori diagnostici, fatta eccezione per quelli di tipo microbiologico.

Riteniamo, tuttavia, che occorra stimolare in queste tipologie di attività l'istituzione di sistemi di registrazione di tutti gli episodi di contaminazione con agenti biologici o con materiali biologici potenzialmente infettanti.

Riguardo a quest'ultimo punto è opportuno sottolineare che dovrà essere considerato evento accidentale, e quindi puntualmente registrato, non solo il grande accidente che può determinare un diffuso inquinamento ambientale, ma anche la banalissima e assai più frequente puntura con aghi o il taglio con bisturi nonché qualsiasi, anche modesto, imbrattamento con liquidi biologici.

È questa una prassi che faticosamente si è cercato di far adottare in tutte le attività lavorative comportanti la possibile contaminazione con materiali biologici e sulla quale non si insisterà mai abbastanza. Senza la conoscenza dell'evento è, infatti, impossibile attuare quelle misure di immunoprofilassi o di sorveglianza sanitaria atte ad evitare, quando possibile, o, comunque, a contenere i danni derivanti dallo sviluppo di una malattia infettiva.

Inoltre, la registrazione, oltre agli studi statistici sull'andamento del fenomeno, necessari per una miglior programmazione degli interventi di prevenzione, consente un più agevole riconoscimento del nesso di causalità e quindi il riconoscimento, anche ai fini assicurativi, della malattia professionale.

I destinatari dei registri degli esposti e degli eventi sono l'Istituto superiore di sanità, l'ISPESL e l'organo di vigilanza.

Art. 88 (registro dei casi di malattia e di decesso)

Questo articolo prevede l'istituzione presso l'ISPESL di un registro dei casi di malattia ovvero di decesso dovuti all'esposizione professionale ad agenti biologici. Il modello, le modalità di tenuta nonché

le procedure di comunicazione dei casi all'ISPESL saranno determinati con un successivo Decreto ministeriale.

Il medico che diagnostichi una malattia ovvero un decesso dovuto ad esposizione professionale ad agenti biologici dovrà darne comunicazione all'ISPESL, corredando l'informazione con la relativa documentazione clinica.

Ciò non esonera il medico dagli obblighi di denuncia all'Azienda Usl della malattia professionale (art. 139 DPR 1124/65; DM 18/3/1973) e di referto alla AG o alla PG della Azienda Usl in caso di lesioni gravi (art. 365 c. p.).

Ricordiamo che nell'elenco delle malattie per le quali è obbligatoria la denuncia (DM 18/3/73) sono comprese le zoonosi o malattie quali l'elmintiasi, l'anchilostomiasi e "le malattie infettive del personale che si occupa di profilassi, cure, assistenza a domicilio e ricerche".

Questi obblighi sono ancora oggi largamente disattesi in linea generale ed in particolare nel campo della patologia infettiva.

Sarà, quindi, necessario un particolare impegno da parte degli operatori dei Servizi di prevenzione e vigilanza delle Aziende Usl nel sollecitare, in ogni occasione e con le forme che si riterranno più idonee (incontri, seminari, corsi, circolari, ecc.), i medici competenti al rispetto di obblighi di vecchia data.

Di grande utilità potrà risultare, inoltre, una collaborazione con i Servizi di igiene pubblica ai quali afferiscono le denunce di malattia infettiva indipendentemente dall'origine professionale o meno, procedura assai più rispettata rispetto a quella relativa alla patologia professionale.

Questa collaborazione consentirà, inoltre, di procedere congiuntamente alla valutazione circa l'adeguatezza delle misure di prevenzione adottate ovvero alla proposta di misure integrative volte a salvaguardare l'intera collettività (lavorativa e non).

Il richiamo agli obblighi di denuncia e di referto dovrà favorire quel naturale flusso informativo dai medici delle aziende all'organo di vigilanza che invece il Capo III del Titolo VIII del D.Lgs 626/94 sembra avere escluso.

Tabella 1 - Settori lavorativi ed incombenze per l'applicazione del Titolo VIII del D.Lgs 626/94 (Protezione da agenti biologici)

Art	Incombenza	Uso deliberato	Esposizione potenziale
78	Valutazione del rischio	sempre	sempre
76	Comunicazione all'Azienda Usl	2, 3 2, 3 (a) 4 (b) 4 (c)	
77	Autorizzazione ministeriale	4	
77	Comunicazioni variazioni al Ministero	4 (e)	
79	Misure tecniche, organizzative e procedurali	se rischio	se rischio
80	Misure igieniche	2, 3, 4	se rischio
81	Misure specifiche per strutture sanitarie e veterinarie *	2, 3, 4	se rischio
82	Misure specifiche per laboratori e stabulari **	2, 3, 4	se rischio (f)
83	Misure specifiche per processi industriali	2, 3, 4	se rischio (g)
84	Misure di emergenza	2, 3, 4	2, 3, 4
85	Informazione e formazione	sempre	sempre
86	Sorveglianza degli esposti	se rischio	se rischio
87	Registro esposti	3, 4	
87	Registro eventi accidentali	consigliato	consigliato

N.B.: I numeri nella terza colonna della tabella, quando presenti, si riferiscono alle classi di pericolosità attribuite ai microrganismi dagli elenchi di cui all'Allegato XI del D.Lgs 626/94.

(a) In caso di variazioni.

(b) Solo i laboratori diagnostici nei confronti di affezioni da agenti di gruppo 4.

(c) Previo ottenimento dell'autorizzazione del Ministero della Sanità, che provvede direttamente ad avvisare l'Azienda Usl, quale organo di vigilanza.

(d) Se microrganismi geneticamente modificati di gruppo 2, sostituire il documento di valutazione del rischio con la documentazione prevista dal D.Lgs 3/3/93 n. 91.

(e) Esclusi i laboratori diagnostici nei confronti di affezioni da agenti di gruppo 4.

(f) In caso contrario, si applica solo il comma 3.

(g) In caso contrario, si applicano solo i commi 1 e 2.

2. DEFINIZIONE DI BIOTECNOLOGIE

I settori lavorativi che possono comportare una potenziale esposizione a microrganismi sono numerosi. Fra i più classici e studiati ambiti di esposizione a microrganismi potenzialmente patogeni legati all'attività lavorativa vanno ricordati innanzitutto il lavoro a contatto con soggetti infetti, quale quello che si verifica in ambito sanitario/ospedaliero, e l'allevamento degli animali. Gli aspetti relativi alla medicina ed igiene del lavoro in questi settori, unitamente a tutte le attività collegate che espongono al rischio di contrarre infezioni trasmesse all'uomo dall'uomo o dagli animali (zoonosi), ivi compreso l'esercizio della professione veterinaria, e l'attività nei laboratori di diagnosi o saggio microbiologico, rientrano a pieno titolo in quanto prescritto dal D.Lgs 626/94.

Accanto a questi rischi di origine ben nota, è invece da segnalare, per il suo progressivo sviluppo nei paesi più industrializzati (Stati Uniti, Giappone, Europa), un vasto settore per il quale è ipotizzabile l'esistenza di un'esposizione a microrganismi potenzialmente pericolosi e che comprende i processi tecnologici a base biologica. Questo ambito viene fatto rientrare nel più generale termine di **biotecnologia**, definita dalla *Organization of Economic Cooperation and Development* (OECD, 1986) come "l'applicazione dei principi della scienza e dell'ingegneria al trattamento di materiali mediante agenti biologici nella produzione di beni e servizi". È da sottolineare che una diversa, e più restrittiva interpretazione del termine biotecnologia è stata, tuttavia, riferita alle sole tecniche di manipolazione genetica avanzata.

Una prima distinzione nel novero di queste tecnologie produttive è quindi operata tra processi biotecnologici di tipo tradizionale e di tipo avanzato.

Tra i **processi biotecnologici tradizionali** sono per esempio classificati quelli che utilizzano tecniche fermentative conosciute ed utilizzate da secoli per la produzione di alimenti (pane, latte, vino, birra) e processi di più recente allestimento, ma ormai impiegati su vasta scala, quali, per esempio, quelli per la produzione di biodetergenti, antibiotici, enzimi o per il trattamento dei rifiuti e per l'estrazione con microrganismi dei metalli e dei minerali; per **processi biotecnologici avanzati** si intendono invece le nuove tecnologie basate sull'uso dei sistemi biologici progettuali (comprendenti le tecnologie del DNA ricombinante, degli anticorpi monoclonali e nuove tecniche di ingegneria dei bioprocessi) per sviluppare commercialmente prodotti e processi produttivi. Va inoltre sottolineato come le biotecnologie avanzate, oltre a schiudere nuovi orizzonti di ricerca e trovare innovativi campi di applicazione (come per esempio in ambito medico-scientifico, in campo sia diagnostico che terapeutico), possano nel loro progressivo sviluppo migliorare le biotecnologie tradizionali. Un esempio al riguardo è rappresentato dall'uso di risorse rinnovabili: vari microrganismi, che si sono dimostrati in grado di convertire materiali di scarto in materie prime, alcune delle quali sono vettori energetici, possono essere resi più efficienti grazie all'intervento delle tecniche avanzate, con conseguente miglioramento del loro sfruttamento commerciale. Le biotecnologie avanzate non sono quindi da considerarsi come una applicazione per singolo prodotto, ma si configurano come un gruppo di sistemi tecnologici ad elevata potenzialità che possono trovare numerose applicazioni in diversi ambiti industriali.

Oltre al **campo medico-scientifico**, di cui si è già accennato precedentemente, vanno principalmente ricordati: il **settore agroalimentare**, dove l'introduzione di prodotti e processi biotecnologici può notevolmente incidere su numerosi passaggi della produzione agricola, aumentandone la resa e riducendone proporzionalmente i costi; il **settore agricolo**, dove l'uso in spazi aperti (ovvero in pieno campo) di pesticidi costituiti da batteri veicolanti principi fitofarmacologicamente attivi può notevolmente aumentare la specificità degli interventi di controllo delle specie animali e vegetali infestanti; il **settore chimico**, dove il coinvolgimento delle biotecnologie va dalla produzione di composti ad elevato valore aggiunto allo sviluppo di nuove metodologie di disinquinamento e protezione dell'ambiente; il **settore dell'energia**, dove il contributo della biotecnologia si esplica nel miglioramento delle tecniche di utilizzazione di residui agricoli o alimentari per la produzione di vettori energetici (etanolo, metanolo, metano) e di biomasse batteriche da fonti energetiche rinnovabili, come i materiali ligno-cellulosici, oppure nel possibile miglioramento dell'estrazione del petrolio dai pozzi per l'azione di agenti surfattanti di origine batterica o di microrganismi eventualmente geneticamente modificati nelle loro capacità metaboliche di trasformazione di idrocarburi a lunga catena (solidi) in miscele di composti a minor peso molecolare, ma fluidi ed estraibili dal giacimento; il **settore del trattamento dei rifiuti**, ivi compreso il trattamento di depurazione biologica delle acque reflue urbane ed industriali, dove grazie alle

tecno-logie avanzate è possibile aumentare la naturale funzione degradativa aerobica ed anaerobica dei batteri, oppure individuare o "costruire" particolari ceppi di microrganismi efficaci nella degradazione di specifiche sostanze inquinanti normalmente non degradabili; il **settore minerario**, dove l'utilizzazione di microrganismi che operano la bioliscivazione dei minerali e di proteine di origine batterica efficaci nella chelazione e concentrazione dei metalli (quali le metallotioneine) è resa più efficace dal miglioramento delle caratteristiche dei diversi sistemi di estrazione e dall'ampliamento dello spettro dei metalli estraibili dai minerali secondo questa modalità. Da ultimo, va sottolineata la diffusione e l'importanza dell'uso degli enzimi di origine batterica nei processi produttivi, come per esempio nell'industria conciaria, alimentare e della detergenza.

Un secondo criterio di classificazione dei diversi tipi di procedimenti biotecnologici è riconducibile alla specificità del microorganismo utilizzato ed alle modalità produttive - impiantistiche - adottate per la sua crescita. Si possono così individuare **processi di fermentazione non asettica**, dove è previsto l'utilizzo di flora batterica indigena o mista (per esempio nel trattamento delle acque reflue o nella produzione del biogas-metano dai rifiuti) oppure di flora mista ma selezionata (come per esempio nella produzione alimentare), oppure **processi di fermentazione asettica** con utilizzo di un singolo ceppo specifico (come ad esempio nell'industria farmaceutica).

Lo sviluppo delle biotecnologie in Italia, in analogia a quanto si registra in altri paesi europei, mostra caratteri di eterogeneità, in alcune applicazioni di limitatezza, risultando prevalentemente condizionato dalla limitazione degli investimenti. I settori che hanno meglio sfruttato a fini produttivi i risultati delle ricerche biotecnologiche avanzate sono rappresentati da quello farmaceutico, chimico, petrolchimico ed alimentare.

Una stima globale del numero di lavoratori potenzialmente esposti a rischio di natura biologica per tutte le diverse attività produttive previste dal D.Lgs 626/1994 risulta allo stato attuale di difficile formulazione; oltre alle 10-15.000 unità coinvolte nell'uso industriale di microrganismi, devono essere aggiunte 300-500.000 unità impiegate in campo sanitario/ospedaliero e di utilizzo dei microrganismi ai fini di ricerca, diagnosi e saggio e da ultimo i lavoratori dell'industria agroalimentare la cui numerosità - a seconda dei criteri adottabili nella presunzione dell'esistenza di un rischio - può essere stimata oscillare tra 0.8 e 1.2 milioni di persone.

3. ELENCO DELLE ATTIVITÀ LAVORATIVE CHE COMPORTANO RISCHIO DI ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

Qui di seguito vengono elencate le principali attività lavorative comportanti uso deliberato di agenti biologici (Tabella 2) e quelle comportanti esposizione potenziale agli stessi (Tabella 3).

Per il censimento delle prime i Servizi di prevenzione e vigilanza delle Aziende Usl potranno fare utile riferimento al censimento ISTAT, all'anagrafe INAIL o INPS, nonché all'elenco degli abbonati al servizio telefonico.

Per il censimento delle seconde, oltre alle fonti generali, ci si potrà avvalere di alcune fonti particolari che sono state indicate nell'Allegato 3.

Il censimento delle attività lavorative con possibile rischio di esposizione ad agenti biologici presenti nel bacino di utenza del Servizio è condizione indispensabile per poter intraprendere iniziative di informazione attiva verso l'utente nonché per programmare le attività di controllo.

Poiché il Titolo VIII norma un rischio lavorativo specifico alquanto trascurato dalla normativa preesistente è opportuno che i Servizi di prevenzione e vigilanza delle Aziende Usl dedichino particolare attenzione all'informazione dell'utenza nelle forme che riterranno più efficaci nelle specifiche situazioni (lettere circolari, incontri, seminari, ecc.).

Tabella 2 - Settori lavorativi con l'uso deliberato di agenti biologici

Università e Centri di ricerca

- ricerca e sperimentazione nuovi materiali e processi utilizzando agenti biologici
- laboratori di microbiologia (diagnostica e saggio)

Sanità

- ricerca e sperimentazione nuovi metodi diagnostici
- farmaci contenenti agenti biologici (uso e sperimentazione)
- laboratori di microbiologia
- prove biologiche (su animali e su cellule)

Zootecnia e Veterinaria

vedi sopra

Industria delle biotecnologie

- produzione di microrganismi selezionati

Farmaceutica

- ricerca e produzione vaccini
- ricerca e produzione farmaci
- processi di biotrasformazione
- fasi di separazione, concentrazione, centrifugazione e produzione di sostanze derivate
- ricerca e produzione nuovi kit diagnostici
- prove biologiche (su animali e su cellule)

Alimentare

- produzione per biotrasformazione (vino, birra, formaggi, zuccheri, ecc.)
- produzione di microrganismi selezionati
- laboratori di microbiologia per prove di saggio (ricerca patogeni)

Chimica

- produzione per biotrasformazione di composti vari (es. detersivi, prodotti per la concia del cuoio)

Energia

- produzione per biotrasformazione di vettori energetici (etanolo, metanolo, metano) usando residui agricoli e agroalimentari o altre biomasse

Ambiente

- trattamento rifiuti
- uso di microrganismi (batteri) con funzione degradativa aerobica e anaerobica

Miniere

- recupero metalli
- uso di microrganismi per la concentrazione dei metalli da soluzioni acquose

Agricoltura

- fertilizzazione colture
- uso di microrganismi azotofissatori
- inoculazione micorrize
- sviluppo nuove sementi
- uso di antiparassitari microbici: batteri, funghi, virus

Industria bellica

· produzione armi biologiche

Tabella 3 - Attività con potenziale esposizione ad agenti biologici

Industria alimentare

Agricoltura

Zootecnia

Macellazione e lavorazione delle carni

Piscicoltura

Servizi veterinari

Industria di trasformazione di derivati animali (cuoio, pelle, lana, ecc.)

Servizi sanitari (ospedali, ambulatori, studi dentistici, servizi di assistenza)

Laboratori diagnostici (esclusi quelli di microbiologia)

Servizi mortuari e cimiteriali

Servizi di raccolta, trattamento, smaltimento rifiuti

Servizi di disinfezione e disinfestazione

Impianti industriali di sterilizzazione, disinfezione e lavaggio di materiali potenzialmente infetti

Impianti depurazione acque di scarico

Manutenzione impianti fognari

Tabella 4 - Forme informative per le diverse attività

Attività	Fonti informative *
Industria	Associazioni imprenditoriali e sindacali di categoria
Agricoltura	Associazioni imprenditoriali e sindacali di categoria
Servizi sanitari	Assessorato Sanità Regione
Attività sanitarie libero professionali	Aziende Usl (Serv. 1, 2, 3) Ordini professionali (dentisti, ambulatori medici, ecc.)
Laboratori di analisi	Associazioni di categoria o Enti di appartenenza
Istituti universitari	Università
Servizi mortuari	Comune Pagine Gialle per imprese private
Trattamento rifiuti	Assessorati Ambiente di Regione, Comune, Provincia
Trattamento/manutenzione impianti fognari	Associazioni di categoria Assessorati Ambiente di Comune, Provincia Consorzi intercomunali

* Fonti generali di informazione : ISTAT - INAIL - INPS - Elenco telefonico

4. DEFINIZIONE DI PERICOLO BIOLOGICO

Nel D.Lgs 626/94 il Legislatore ha classificato i diversi agenti biologici in base alla loro pericolosità: tale pericolosità è stata valutata sia nei confronti della salute dei lavoratori che della popolazione generale.

Tra le caratteristiche di pericolosità sono state considerate:

- a) l'**infettività**, intesa come capacità di un microrganismo di penetrare e moltiplicarsi nell'ospite;
- b) la **patogenicità**, riferibile alla capacità di produrre malattia a seguito di infezione;
- c) la **trasmissibilità**, intesa come la capacità di un microrganismo di essere trasmesso da un soggetto infetto ad un soggetto suscettibile;
- d) la **neutralizzabilità**, intesa come la disponibilità di efficaci misure profilattiche per prevenire la malattia o terapeutiche per la sua cura

In microbiologia la pericolosità di un microrganismo viene spesso classificata in base alla "virulenza": la virulenza viene intesa come l'insieme delle caratteristiche di infettività e patogenicità.

Sulla base delle suddette caratteristiche e, in alcuni casi, considerando anche le proprietà allergeniche e tossinogeniche, i microrganismi sono stati suddivisi in 3 classi di pericolosità, con valori crescenti da uno a quattro e delle quali la quarta, la più pericolosa, è riferita ai microrganismi che assommano la presenza di tutte e quattro le caratteristiche negative considerate.

Tra le caratteristiche di pericolosità sovraccitate, solo l'infettività risulta una grandezza misurabile in termini quantitativi: infatti, per ogni microrganismo è in via di principio definibile la dose infettante, cioè il numero di microrganismi necessari per indurre, sperimentalmente o accidentalmente, l'infezione. La capacità infettante di un microrganismo, misurata nell'animale da esperimento, viene espressa come DI_{50} (Dose Infettante 50) ed indica il numero di microrganismi necessari per causare un'infezione oggettivamente nel 50% degli animali sottoposti a contagio sperimentale. La DI_{50} è una proprietà caratteristica di ogni specie di microrganismi, anche se, in alcuni casi e nell'ambito della stessa specie, ogni singolo ceppo è dotato di un valore individuale specifico.

In generale si può affermare che ogni specie è caratterizzata da un suo valore di DI_{50} e che microrganismi con elevata dose infettante risultano meno pericolosi di quelli dotati di bassa dose infettante.

Ai fini preventivi e di valutazione del rischio il parametro che maggiormente assume significato non è però la DI_{50} , ma l'esistenza o meno di una soglia di infettività, intesa come condizione dell'esistenza di

una dose sotto la quale il contagio non produce infezione, ovvero comparsa di malattia (dose minima infettante MDI, DI_0).

5. INDICAZIONI OPERATIVE

5.1 Orientamenti per la valutazione del rischio

L'esistenza o meno di una soglia di infettività per i diversi microrganismi è rilevante ai fini delle strategie preventive del rischio, poiché nel D.Lgs 626/94 tutta l'azione preventiva è ispirata alla necessità di una oggettivamente esistente di un rischio conseguente alla presenza di una condizione di pericolo (rischio valutabile). Il distinguo tra rischio presunto e rischio reale, ovvero valutabile, è basato sulla verifica dell'esistenza di qualche elemento che discrimini le due situazioni, nel caso specifico l'esposizione: la presenza di una situazione pericolosa non costituisce di per sé una condizione di rischio fino a che non sia stata:

1. verificata l'esistenza di una esposizione all'agente pericoloso causa del rischio;
2. valutata l'entità di tale esposizione. La necessità di valutare sia l'esistenza dell'esposizione che la sua entità è determinata dall'eventualità che non sempre in presenza di esposizione sussiste una condizione di rischio.

Questa condizione è, ad esempio, quella che distingue il rischio chimico dovuto a sostanze non cancerogene oppure a sostanze cancerogene per le quali non si considera l'esistenza di una soglia, oppure tra microrganismi con una soglia di infettività o microrganismi privi di soglia di infettività.

Numerose sono quindi le analogie che legano la tematica dell'accertamento dei rischi di natura biologica a quelle dei rischi per le sostanze cancerogene, primo tra questi il fatto che per molti microrganismi (es. virus, ma anche elminti) la dose infettante minima (DI_0) è stimabile intorno all'unità, ovvero è sufficiente la contaminazione con un microrganismo per generare l'infezione e la malattia.

Ai fini della prevenzione del rischio infettivo, viene adottato l'assunto conservativo secondo il quale per molte specie di microrganismi non esiste una soglia di infettività ($DI_0 = 1$) e, quando questa condizione è abbinata ad elevata patogenicità, trasmissibilità e limitata neutralizzabilità, l'unico intervento efficace per la prevenzione del rischio risulta l'eliminazione dell'esposizione. L'assenza di una DI_0 non è una eventualità ipotetica ma reale, anche se non tutti i microrganismi, fortunatamente, sono dotati di un insieme di caratteristiche avverse, ovvero di pericolosità, così elevata (si vedano, ad esempio, i microrganismi simbiotici o commensali dell'organismo umano). L'esistenza di una pericolosità dei microrganismi graduabile rende ragione dei criteri di prevenzione del rischio biologico adottati nel Decreto legislativo. La numerosa serie di interventi tecnici ed organizzativi proposti dal Legislatore per limitare l'esposizione, modulati nella loro estensione e rilevanza a seconda della pericolosità del gruppo di appartenenza dei diversi microrganismi, risponde a questa logica e cerca di superare i limiti conoscitivi sulla infettività delle diverse specie e di organizzare in maniera pragmatica le azioni preventive e di tutela della salute.

Per scendere nella disanima di alcuni punti, l'approccio da seguire, ad esempio, per microrganismi del gruppo 4 è analogo a quello utilizzato per le sostanze cancerogene: la gravità degli effetti patologici ad essi associati è tale che ancora prima di speculare sulla ipotetica esistenza di soglie di infettività e quindi di esposizione, è necessario mettere in atto tutti gli accorgimenti disponibili per limitare l'esposizione stessa.

Più in generale, nella stima dei rischi chimico-cancerogeno e biologico-infettivo, tenuto conto della oggettiva difficoltà di una misura biologica dell'esposizione, la misura della contaminazione ambientale costituirà l'elemento portante per la valutazione dell'esistenza del rischio e per definire le sorgenti di diffusione del rischio stesso.

Le stime dell'esposizione o della contaminazione ambientale permettono altresì di valutare l'efficacia delle misure preventive messe in atto per ridurre l'entità del rischio stesso*.

Anche se il rischio non sempre è quantificabile nella sua entità, poiché non si dispone delle curve dose-risposta, la dose è pur sempre un elemento sufficiente per suggerire la messa in atto degli interventi tecnici necessari a limitare l'entità della contaminazione stessa.

L'utilità della stima dell'entità dell'esposizione varia a seconda della classe di pericolosità dei microrganismi in cui viene valutata.

Ad esempio, per esposizione a microrganismi appartenenti alla classe 2, considerata la loro limitata patogenicità, la stima del rischio può essere effettuata prevalentemente in termini epidemiologici cioè osservando, al seguito di una certa esposizione (presunta o misurata), l'incidenza nella popolazione lavorativa di eventi morbosi minori che possano essere utilizzati quali indicatori degli effetti patogeni, conseguenti in via ipotetica, all'eventuale infezione.

Analoga limitata informatività ha la misura dell'entità dell'esposizione nel caso di contagio accidentale a microrganismi con elevata pericolosità: nell'esposizione accidentale a virus (epatite o HIV), quale quella che può verificarsi al seguito di contagio parenterale con materiale infetto in ambito ospedaliero (puntura con ago o ferita con materiale tagliente), la misura dell'entità dell'esposizione o la valutazione del rischio appaiono strumenti inefficaci ai fini preventivi e di tutela della salute. In questo caso l'allestimento di procedure standardizzate di decontaminazione ambientale, di riduzione della frequenza di incidenti e l'adozione di interventi di profilassi immunitaria secondo protocolli terapeutici validati, rappresentano gli unici interventi efficaci per limitare le conseguenze dell'evento accidentale pericoloso e dei possibili rischi per la salute ad esso conseguenti.

La rilevanza che può assumere la stima dell'esposizione nella valutazione del rischio biologico è limitata poiché risulta ancora scarsamente definita la gestione dei risultati del monitoraggio (sia ambientale che biologico) nella stima del rischio stesso.

È infatti ben noto che, a differenza di quanto avviene per il rischio di natura chimica, per gli agenti biologici non esistono limiti di esposizione utilizzabili con funzione di valori soglia.

La mancanza di tali valori limite non è dovuta all'impossibilità di mutuare agli agenti biologici i criteri che hanno ispirato la tutela della salute per esposizione a sostanze chimiche, ma alla limitatezza delle informazioni disponibili sulla infettività per l'enorme numero di microrganismi con cui si può venire in contatto sia in ambito professionale che nell'ambiente di vita.

In queste difficoltà, come già premesso, l'approccio preventivo è quello che viene adottato per il rischio di natura cancerogena, per il quale l'unica azione efficace per un suo contenimento risulta la riduzione al più basso livello possibile della contaminazione ambientale e dell'entità dell'esposizione individuale.

5.2 Metodi per la stima del rischio

In termini statistici, il rischio esprime la probabilità di accadimento di un evento sfavorevole o indesiderato in un determinato contesto, la cui scelta e delimitazione è fondamentale per specificare la natura stessa del rischio che intendiamo stimare.

Ai fini della presente trattazione, distingueremo questo termine da quello, pur ad esso collegato, di "pericolosità", che intenderemo come la potenziale capacità di un oggetto di produrre un danno, per effetto del possesso da parte sua di una data caratteristica.

In pratica il concetto di pericolo avrà soprattutto un significato di tipo qualitativo, mentre il rischio sarà la misura quantitativa della frequenza con cui il pericolo si manifesta in un determinato ambito.

In relazione agli agenti biologici, i rischi tipici che occorre stimare sono quelli di contaminazione, infezione, malattia e/o mortalità.

Quando il rischio associato ad un particolare ambito lavorativo non sia noto o facilmente calcolabile, è possibile utilizzare un metodo non numerico di valutazione del rischio, grossolano ma sufficiente a garantire un primo approccio pratico a scopi preventivi.

Ci si può infatti limitare a localizzare nel flusso del ciclo produttivo i punti o le fasi in cui può determinarsi, anche solo a seguito di eventi eccezionali ma pur sempre plausibili, l'esposizione ad un possibile pericolo.

In assenza di più precisi dimensionamenti del rischio, in queste situazioni si dovranno adottare dunque quelle misure protettive e quelle procedure di buona pratica proporzionate alla pericolosità attribuita a priori, sulla base delle conoscenze scientifiche disponibili allo stato dell'arte medica, agli agenti biologici in gioco.

L'elenco di cui all'allegato XI del D.Lgs 626/94 offre un supporto basilare, anche se non esaustivo, quale strumento per una prima fase di approccio preventivo.

Questo strumento è integrabile dalle conoscenze e acquisizioni desumibili dalla letteratura medica internazionale.

È responsabilità delle aziende, nel lavoro di preliminare valutazione dei rischi biologici connessi al proprio sistema produttivo, utilizzare tutte le fonti scientifiche informative a loro disposizione, con particolare riguardo a quelle riferentisi al comparto di specifico interesse ed agli agenti biologici usati.

In caso di informazioni scientifiche ancora non univocamente chiarite è ovviamente d'obbligo l'assunzione delle decisioni più cautelative per i potenziali esposti, ove e fintanto che ciò sia realisticamente praticabile.

Oltre che mediante l'uso di informazioni ricavate dal mondo scientifico e da fonti ufficiali, il problema della valutazione del rischio, quale si configura entro una specifica realtà lavorativa, si può affrontare in modo puntuale solo instaurando un sistema di sorveglianza e di controllo che permetta di valutare "a posteriori", cioè sulla scorta di sistematiche rilevazioni, l'effettiva frequenza con cui si verifica una contaminazione ambientale in un dato punto del sistema produttivo (identificazione delle fonti di contaminazione).

Ciò in primo luogo permette di intervenire con la necessaria tempestività, a prevenire nuovi eventi di contaminazione; in secondo luogo consente di verificare quanto le misure cautelative adottate siano realmente efficaci, anche in confronto all'attesa teorica.

Alla base di questo approccio sta una dettagliata analisi dei flussi operativi entro un sistema lavorativo. Questo potrà così essere scomposto in una sequenza ordinata di fasi elementari, ciascuna delle quali prevederà l'esecuzione di particolari operazioni in determinate condizioni e mediante l'uso di specifiche dotazioni.

L'infezione è, d'altro canto, un evento che ha come causa necessaria (anche se non sempre sufficiente) l'esposizione efficace all'agente biologico che ne è responsabile, in conseguenza di errori, incidenti o difetti del sistema adottato per il contenimento fisico del microrganismo o per l'isolamento dell'operatore da esso.

È allora possibile individuare, per ogni fase lavorativa, i punti ed i modi in cui si può verificare una esposizione agli agenti biologici impiegati o potenzialmente presenti.

Per ogni punto identificato come critico del ciclo lavorativo, può essere quindi definita una serie di misure di contenimento e di procedure ottimizzate di severità proporzionata alla pericolosità dei microrganismi ivi trattati ed al rischio di contaminazione presente (quando sia noto).

Ove ciò sia indicato, può essere inoltre definita una serie di controlli ambientali analitici o ispettivi sistematici volti a monitorare il corretto svolgimento del lavoro e a rilevare immediatamente l'esistenza di condizioni operative cui può conseguire una potenziale esposizione ovvero il verificarsi di dispersioni di microrganismi pericolosi al di fuori delle zone di contenimento previste.

Si costruisce così un sistema di rilevazione di eventi accidentali utile a quantificare "a posteriori" i rischi realmente presenti localmente, in ragione delle misure preventive utilizzate; più precoce e sensibile (e quindi cautelativo) di quello ad esempio fondato sulla rilevazione dei casi di infezione o di malattia tra gli addetti.

Si tratta di un metodo di analisi ed autocontrollo mutabile dalla tecnica di Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) prevista per l'assicurazione della qualità microbiologica della produzione industriale di alimenti, in cui vengono qui considerate come variabili soggette al monitoraggio ed alla registrazione di incidente quelle, direttamente o indirettamente, ritenute spia precoce e prudentiale di possibile contaminazione o mancato contenimento dell'agente biologico pericoloso ai fini della tutela della salute degli addetti.

È ancora, questa, una metodologia concettualmente sovrapponibile a quella più generale prevista dalle norme della serie ISO 9000 per la garanzia di qualità.

Si realizza quindi un sistema integrato e sinergico di autocontrollo, che può ben armonizzare quanto richiesto per la tutela della salute degli operatori e per la garanzia della qualità del prodotto.

5.3 Indicazioni per la sorveglianza sanitaria

La sorveglianza sanitaria è dovuta per tutte le attività lavorative in cui la valutazione dei rischi abbia evidenziato un rischio per la salute (art. 86), sia che esse prevedano un uso deliberato di agenti biologici che una esposizione potenziale.

Essa, analogamente alle indicazioni di prevenzione, dovrà tenere conto della pericolosità dell'agente e della reale esposizione in relazione agli specifici compiti svolti dall'operatore. Alla valutazione della probabilità più o meno elevata di esposizione ad un agente pericoloso (riportata nella cartella sanitaria in modo sintetico, ma riferita a tutti i compiti a rischio svolti dal lavoratore), dovrà essere abbinata la conoscenza dei fattori favorevoli alla trasmissione dell'infezione.

Tra questi le condizioni atte a sostenere una ipersuscettibilità individuale quali, ad esempio, le dermatosi, l'intolleranza ad alcuni mezzi di protezione, la non effettuazione dell'immunoprofilassi, flogosi in atto, deficit immunologici.

Andranno nel contempo valutati a confronto quei fattori ambientali, identificabili nel corso di sopralluoghi ambientali e tramite il colloquio col lavoratore, che possono concorrere a ridurre le difese cutanee e mucose (ad opera, ad esempio, di irritanti, di un particolare microclima, di microtraumatismi ri-

petuti) e le stesse difese immunologiche (presenza di prodotti chimici ad azione immunomodulatrice, stress).

L'analisi dell'associazione tra la probabilità della reale esposizione ad un agente biologico pericoloso ed i fattori favorevoli all'instaurarsi di una malattia infettiva è preliminare alla corretta individuazione degli accertamenti sanitari e dei criteri di idoneità (ivi compreso l'allontanamento temporaneo del lavoratore).

L'attività di sorveglianza sanitaria deve, inoltre, essere finalizzata alla impostazione di programmi di immunoprofilassi nei confronti delle malattie infettive più rilevanti e per le quali esiste la disponibilità di efficaci vaccini.

Ne consegue che la stessa periodicità della sorveglianza sanitaria dovrebbe essere stabilita non aprioristicamente ma in conseguenza di un protocollo coerente con la natura e l'intensità dei rischi identificati e che tenga anche conto dei fattori individuali e ambientali che possono modificare la suscettibilità del lavoratore.

Appare quindi fondamentale la continuità del supporto del medico competente che deve costituire un preciso punto di riferimento per il lavoratore sia per programmare, scadenziare ed effettuare gli accertamenti, sia al bisogno, al verificarsi, ad esempio, di contaminazioni accidentali da agenti biologici.

In quest'ottica, soprattutto nel caso di aziende di piccole dimensioni o disseminate sul territorio (ad es.: aziende agricole, artigiane, ecc.), può essere utile il ricorso a medici competenti per zona o per comparto in alternativa alla presenza di molteplici medici competenti che applicano le proprie funzioni in carenza di continuità e di coordinamento.

L'obbligo di sottoporre i dipendenti a sorveglianza sanitaria e, per converso, l'obbligo di questi di ricorrervi costituisce un importante strumento di verifica indiretta, da parte del medico competente, delle modalità di esecuzione dei compiti a rischio.

Il monitoraggio biologico è applicabile all'interno di una più complessiva attività sanitaria al fine di valutare l'esposizione e il rischio anche se limitatamente ad alcuni casi, quali la titolazione di anticorpi indicativi di un'esposizione (ad esempio precipitine per miceti), o per valutare la risposta anticorpale dopo immunoprofilassi.

Per la realizzazione di un programma di sorveglianza sanitaria vengono riportate qui di seguito alcune indicazioni di massima:

- predisposizione di questionari mirati alla raccolta di informazioni relative ai compiti, alle modalità operative e della sintomatologia eventualmente accusata;
- attuazione e verifica delle immunoprofilassi richieste o indicate per specifiche categorie di lavoratori
- inserimento, tra gli esami di routine, di quelli indicativi di possibili affezioni di interesse specifico (ad es: eosinofilia ed esame coproculturale per parassitosi, test sierologici per brucellosi e toxoplasmosi in addetti a macelli, allevatori, ecc.)
- ricerche anticorpali secondo protocolli consolidati per valutare lo stato immunitario a seguito di immunoprofilassi o di esposizione accidentale (ad es. ricerca di anticorpi per epatite B)
- ricerche colturali connesse al rischio di propagazione dell'agente a terzi (ad es. esecuzione di tamponi faringei nel personale di ostetricia, neonatologia, ecc.)
- approfondimento, anche tramite il medico di base, di aspetti correlati al rischio (accertamenti su familiari, stato atopico) e segnalazione di esposizioni potenziali connesse con l'attività lavorativa.

Tutte le misure di immunoprofilassi previste dalla legge o consigliate per specifiche categorie di lavoratori sono effettuate a cura e spese del datore di lavoro, fatta eccezione per quelle per le quali la normativa prevede specifiche procedure di esecuzione (è il caso della vaccinazione antitetanica eseguita gratuitamente dai Servizi di igiene pubblica delle Aziende Usl; sarà ovviamente il datore di lavoro che dovrà provvedere ad inviare i lavoratori soggetti alle Aziende Usl). In alcuni casi il datore di lavoro potrà fare riferimento ai Servizi di igiene pubblica delle Aziende Usl usufruendo di particolari agevolazioni (es. vaccinazione anti-epatite B offerta gratuitamente nei casi previsti).

La sorveglianza sanitaria sarà occasione per fornire ai lavoratori la dovuta informazione sul significato e sui limiti della stessa. In particolare dovranno essere fornite indicazioni sui fattori favorevoli all'instaurarsi di una malattia infettiva e sul riconoscimento precoce di sintomi ad essa riferibili e sulle misure di profilassi generale e specifica da adottare in caso di contaminazione accidentale.

RIFERIMENTI AD ALTRE MONOGRAFIE

L'argomento oggetto della presente monografia è ripreso anche in altre, dove ne sono sviluppati aspetti particolari, e precisamente:

- anzitutto, valgono i consueti rimandi ai documenti n. **1**, n. **2** e n. **3**, in ordine ai principi generali che regolano processi che, con le specificità illustrate nel documento in oggetto, si applicano al problema dell'esposizione ad agenti biologici;
- nel documento n. **4** si affronta il tema dei piani d'emergenza, che è anch'esso ovviamente riferibile, con sue peculiarità specifiche, all'esposizione ad agenti biologici;
- nel documento n. **9** sono delineati i principi generali della sorveglianza sanitaria e i compiti del medico competente;
- nel documento n. **12** è esaminato in dettaglio il problema dell'uso dei DPI, che trova, nel campo dell'esposizione ad agenti biologici, un terreno di altissima rilevanza.

Allegato 1

MISURA DEI MICRORGANISMI AERODISPERSI

Le indagini ambientali per il monitoraggio degli agenti biologici aerodispersi possono essere divise in due gruppi principali: il primo costituito dall'analisi quantitativa ed il secondo dall'analisi qualitativa.

L'analisi quantitativa consiste nella raccolta di campioni d'aria contenenti le particelle biologiche e nella determinazione della componente vitale di esse.

L'analisi qualitativa comporta la caratterizzazione degli agenti biologici rilevati. I metodi di campionamento degli aerosol biologici disponibili sono di due tipi: passivo ed attivo.

Il campionamento di tipo passivo consiste nella raccolta di particelle con l'impiego di capsule di Petri, contenenti opportuni terreni di coltura, nelle quali si deposita per gravità il particolato aerodisperso.

L'efficienza di raccolta dipende sia dalle dimensioni aerodinamiche delle particelle che dal grado di ventilazione.

Tale metodo comporta sia errori qualitativi che quantitativi: oltre a non fornire informazioni sul volume di aria campionata, con questo metodo vengono sovrastimate le particelle di maggiori dimensioni rispetto a quelle più piccole ma di gran lunga più importanti da un punto di vista sanitario.

Per il campionamento attivo si utilizzano due tipi di strumenti: collettori inerziali o "impactors", che sfruttano l'inerzia delle particelle trascinate da una corrente gassosa per la loro raccolta su una superficie o in un liquido; filtri, che separano fisicamente le particelle dal flusso gassoso.

Sono disponibili diversi tipi di impactor: rotanti, centrifughi, ad aspirazione e gorgogliatori o "liquid impingers".

Gli impactor rotanti e centrifughi sono efficienti solo per particelle con dimensioni superiori ai 15 - 20 μm .

I rimanenti tipi di impactor sono adeguati per il campionamento di particelle in un intervallo dimensionale molto ampio.

Il più utilizzato è quello a sei stadi a cascata di Andersen per il campionamento di particelle con dimensioni aerodinamiche minori di 1 μm e maggiori di 8 μm .

L'Andersen a sei stadi è stato raccomandato dalla Commissione sui Bioaerosol dell'ACGIH per il monitoraggio di routine dei microrganismi aerodispersi presenti negli uffici (valori massimi di contaminazione attesa 10 cfu/m³).

In ambienti pesantemente contaminati (concentrazioni di microrganismi > 10 cfu/ m³) l'utilità dell'uso di un impactor a sei stadi risulta, invece, limitata poiché in questo caso i tempi di campionamento devono essere ridotti fino a poche decine di secondi per evitare fenomeni di sovrapposizione o di competizione della crescita dei microrganismi.

Sono stati messi a punto anche modelli a due stadi che permettono di separare gli aerosol nelle frazioni "respirabile" e "non respirabile".

I gorgogliatori, utilizzati in igiene industriale per la raccolta delle polveri, sono stati adattati per il campionamento degli agenti biologici aerodispersi.

Essi vengono utilizzati specialmente per la raccolta di microrganismi in ambienti dove si suppone siano presenti nell'aria elevate concentrazioni.

Infatti il vantaggio del loro impiego è che il liquido di raccolta, oltre a proteggere i microrganismi dalla disidratazione, rende possibile la diluizione del campione stesso prima che venga avviato alle indagini successive. L'uso dei gorgogliatori non è stato ancora adeguatamente studiato e validato per funghi, tossine e antigeni.

La filtrazione su membrane a micropori è un metodo in uso da più di cento anni per la raccolta delle particelle sospese e l'efficienza nella separazione risulta ottima, ma quando si voglia determinare la carica vitale del particolato tale metodo è apparso molto limitato. Infatti la filtrazione in assenza di acqua provoca disidratazione e morte delle cellule raccolte con seguente sottostima della carica vitale reale.

Essa può essere pertanto utilizzata con profitto solo per la raccolta di microrganismi resistenti o per spore fungine.

La filtrazione ad alto volume viene utilizzata per la raccolta di sostanze di origine biologica, presenti nell'aria a concentrazioni molto basse, per esempio pollini o specifici allergeni.

I principali metodi per l'analisi delle particelle biologiche aerodisperse sono: coltura, microscopia, metodi biochimici e immunologici e biologici.

I metodi colturali oltre a fornire informazioni sulla vitalità dei microrganismi permettono la successiva identificazione delle particelle campionate (batteri, virus, actinomiceti, spore fungine) che può essere attuata con l'impiego di metodiche di microscopia e con metodi biochimici.

Questo tipo di approccio viene utilizzato con campioni d'aria prelevati con impactor provvisti di terreno colturale di raccolta e per l'analisi degli eluati per campioni raccolti su filtri. Inoltre, i metodi colturali sono particolarmente indicati per il rilevamento di agenti infettivi importanti quali la Legionella, gli Stafilococchi ed alcuni funghi patogeni invasivi. Il limite dei metodi colturali è rappresentato dal fatto che con essi viene sempre sottostimata la reale carica di microrganismi presenti nell'aria.

L'utilizzo dei metodi immunologici o biochimici è indicato per la ricerca dei singoli contaminanti.

Questi metodi sono stati usati per l'identificazione di endotossine aerodisperse, micotossine e per l'analisi di diversi tipi di antigeni e di actinomiceti termofili.

Metodi biologici in vitro vengono utilizzati per virus ed endotossine.

Come conclusione di questa breve disamina, si può affermare che al momento attuale non esiste una tecnica di prelievo universale, adatta alla grande varietà morfologica e biochimica degli agenti biologici da monitorare.

Sia i metodi per osservazione diretta del particolato raccolto che quelli colturali di crescita su terreni nutritivi e/o selettivi o di analisi chimica di alcuni componenti cellulari risultano ancora in una fase sperimentale e la loro validità nel monitoraggio della esposizione deve essere ancora validata.

Allegato 2

MISURA DELLA CONTAMINAZIONE BIOLOGICA DI SUPERFICIE

La valutazione del grado di contaminazione microbiologica delle superfici trova indicazione almeno per:

- verificare l'efficacia dei sistemi di decontaminazione in uso;
- controllare la rispondenza del livello di asepsi esistente rispetto a quello previsto per una data lavorazione;
- accertare l'assenza di dispersioni di agenti biologici al di fuori delle aree di contenimento previste.

Oggetto di valutazione possono essere, a seconda degli scopi perseguiti, tanto le superfici dei piani di lavoro che quelle di utensili e apparecchiature.

Per garantire una reale interpretabilità dei dati forniti da queste determinazioni è innanzitutto fondamentale la corretta scelta dei parametri da valutare in ragione degli scopi che i controlli si prefiggono.

Questi possono essere, a seconda delle necessità: il numero totale dei microrganismi presenti per unità di superficie; il numero di elementi di uno specifico agente biologico presenti in una data area o, ancora, la qualità di una sostanza in qualunque modo correlabile alla presenza dei microrganismi di interesse.

Naturalmente il programma di campionamento deve inoltre precisare a priori una strategia di valutazione dei risultati che permetta di stimare le variazioni ritenute di maggior significatività, per le finalità dell'indagine.

Si parlerà allora, di volta in volta, di controlli in parallelo di più superfici adibite alle stesse funzioni; a caso/controllo, tra aree diversamente esposte a contaminazione o sottoposte a diverso trattamento di sanificazione; monte/valle rispetto ad una certa procedura operativa o, ancora, di analisi longitudinali di serie temporali, al fine di evidenziare la comparsa di tendenze o di valutare la frequenza di eventi indesiderati.

È infatti tipico il carattere relativo delle informazioni ricavabili dal controllo microbiologico delle superfici.

Si tratta sempre di giudicare i rispettivi esiti analitici per confronto qualitativo o quantitativo con altri o con dei limiti assegnati.

Ciò impone una scrupolosa standardizzazione delle procedure di prelievo e di analisi nell'ambito almeno, del singolo contesto sperimentale, dato che esistono varie alternative possibili, nessuna delle quali del tutto priva di difetti o univocamente preferibile alle altre, specie in considerazione dell'estrema variabilità delle condizioni in cui si può ipotizzare di dover effettuare i campionamenti.

Poiché tutte le tecniche possono essere seriamente influenzate dalla manualità, è opportuno che esse siano affidate ad un gruppo di operatori fisso, di numerosità discreta e di adeguato addestramento.

È soprattutto la tecnica di prelievo che più facilmente si presta al maggior numero di varianti, in ragione del tipo, della configurazione e dell'accessibilità delle superfici da sottoporre ad esame.

È ancora questa la fase meno standardizzabile e, quindi più spesso fonte di errori di stima.

Nel caso di superfici, le principali tecniche di prelievo possono essere ricondotte almeno ai seguenti tipi fondamentali:

1. lavaggio con soluzioni sterili
2. piastre a contatto
3. tamponamento.

Nella Tabella 1 sono sintetizzate le caratteristiche salienti di ognuno.

Poiché oggetto di studio sono superfici destinate all'esecuzione di attività in cui i controlli della contaminazione biologica è fondamentale, sarà sempre da tenere presente, nella definizione dei metodi analitici, che la presenza di sostanze inibenti può influenzare in modo sostanziale i risultati analitici e, quando ciò sia indesiderato, deve sempre essere esclusa mediante, ad esempio, neutralizzazione o quantificazione.

In casi particolari, come per tubi, condutture o altri contenitori, soluzioni disinfestanti a concentrazione nota, poste a contatto per un tempo e in condizioni di temperatura standardizzate, possono addirittura essere utilizzate, oltre che per il loro effetto germicida, anche come traccianti in grado di consentire, attraverso il dosaggio del loro potere residuo in uscita, una stima indicativa del grado di contaminazione organica di superfici altrimenti non accessibili ad un adeguato campionamento diretto.

La tecnica analitica vera e propria è essenzialmente funzione dei microrganismi ricercati e della natura qualitativa o quantitativa della stima richiesta, oltre che dei tempi di risposta e del grado di precisione richiesti.

Un'oculata scelta di metodi e terreni colturali è sempre propedeutica all'avvio di programmi di ricerca o di monitoraggio.

Recentemente alla stima della contaminazione biologica fondata sulla ricerca diretta di microorganismi prelevati con i metodi ricordati, si è aggiunta quella basata sulla ricerca di prodotti del metabolismo batterico o di parti strutturali di agenti biologici.

Un esempio del primo tipo di nuove tecniche è rappresentato dal dosaggio luminometrico dell'ATP batterico raccolto da un'area mediante tamponamento, che può trovare utilizzazione soprattutto ove non sia richiesta che una stima generica ma rapida del livello di sanitizzazione realmente ottenuto con le pratiche in uso.

Al secondo tipo di metodiche attengono tanto la ricerca di antigeni proteici con tecniche immunologiche utilizzando traccianti amplificatori di segnale (immunoenzimatica, radioimmunologia, ecc.), quanto quella di frammenti genomici specifici di alcuni microorganismi, mediante l'uso di sonde marcate o di amplificatori genici (PCR).

Si tratta di tecniche ancora in gran parte sperimentali e gravate da un costo ancora molto elevato, che possono trovare impiego, nel campo qui trattato, solo in ambiti particolari ed in chiave soprattutto qualitativa; specie in virtù del loro grado abbastanza elevato di sensibilità e specificità.

Tabella 1 - Principali caratteristiche delle tecniche di prelievo da superfici per la valutazione della contaminazione da microrganismi

Tecnica	Principio	Indicazioni
Lavaggio con soluzioni sterili	Un volume dato di una soluzione sterile viene recuperato dopo un tempo fissato di contatto con la superficie e viene separato direttamente o previa filtrazione su membrana.	Valutazione di contenitori, con un solo campionamento si possono effettuare frazionando il valore recuperato, più determinazioni
Piastrine a contatto	Il menisco convesso di terreni agarizzati preparati su supporti o in piastrine di dimensioni note, viene messo in contatto diretto con la superficie da testare.	Valutazione di superfici lisce e regolari, di area superiore a quella delle piastrine usate per il campionamento; di solito previa pulitura e sanificazione.
Tamponamento	Tamponi di alginato o altri materiali vengono sfregati su di un'area predelimitata di superficie e quindi trasferiti in una soluzione tampone, dove cedono, per dissolvimento o liberazione, i microrganismi raccolti	Studio di superfici piane facilmente accessibili, bagnate o meno, anche se non lisce o regolari.

* Per le strutture sanitarie ed assistenziali si richiamano le linee guida di comportamento per gli operatori sanitari per il controllo delle infezioni da HIV - Ministero della Sanità, 6/9/89 - e il DM del Ministero della Sanità, 28/9/90 "Norme di protezione da contagio professionale da HIV nelle strutture sanitarie e assistenziali pubbliche e private.

** Per quanto riguarda il lavoro di laboratorio vanno ricordate le linee guida dell'OMS pubblicate nel 1986 negli "Annali dell'ISS" .

* Negli allegati 1 e 2 vengono riportate indicazioni circa la misura dei microrganismi aereodispersi (1) e della contaminazione biologica di superficie (2).

Occorre precisare che:

_ La misura dei microrganismi aereodispersi è un metodo per valutare la qualità dell'aria e quindi l'efficienza di alcuni impianti (es. sale operatorie, reparti BCM, ecc.), mentre il rischio dell'uomo di fronte ai fattori infettivi è un problema di equilibri tra difese immunitarie e fattori di rischio biologico.

_ Anche la misura della contaminazione batterica delle superfici, più che un metodo utile per la valutazione del rischio, costituisce un metodo di controllo dei sistemi di disinfezione e sterilizzazione.